

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Marcos Antônio da Silva Freitas

Graduando em engenharia agrônoma

**SUPLEMENTAÇÃO DE SUBSTRATO PARA O CULTIVO
DA *LENTINULA EDODES* APÓS 1º, 2º E 3º FLUXO DE
COLHEITA**

Dracena

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Marcos Antônio da Silva Freitas

Graduando em engenharia agrônoma

**SUPLEMENTAÇÃO DE SUBSTRATO PARA O CULTIVO
DA LENTINULA EDODES APÓS 1º, 2º E 3º FLUXO DE
COLHEITA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Tecnológicas – Unesp,
Câmpus de Dracena como parte das
exigências para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Diego Cunha Zied
Coorientador: Me. Wagner Gonçalves Viera júnior

Dracena
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **Suplementação de substrato para o cultivo da *Lentinula edodes* após 1º, 2º e 3º fluxo de colheita**

Modalidade: **Trabalho de Pesquisa**

Autor: **Marcos Antônio da Silva Freitas**

Orientador (a): **Prof. Dr. Diego Cunha Zied**

Co-orientador(es): **Me. Wagner Gonçalves Viera Júnior**

Número de Créditos: 12

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 21/06/2023



Prof. Dr. Diego Cunha Zied



Prof. Dr. Paulo Renato M. Lopes



Me. Lucas da Silva Alves

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Marcos Antônio da Silva Freitas, nascido em 01 de agosto de 1999, na cidade de Dracena/SP. Filho de Antônio Marcos da Silva Freitas e Edinalva Aparecida Silva Freitas. Estudou nas escolas públicas durante toda sua vida, cursando o ensino fundamental e ensino médio na sua cidade de origem. Ingressou na FCAT/UNESP de Dracena/SP em 2019 no curso de Zootecnia e, logo no ano seguinte, transferiu para o curso de Engenharia Agrônômica. Participou dos Grupos de Estudo GAIA (Grupo de Ação em Impactos Ambientais) e CECOG (Centro de Estudos em Cogumelos), onde passou ser orientado pelo Prof. Dr. Diego Cunha Zied. Participou de muitas visitas técnicas, eventos presenciais e online, entre eles CIC, IMAST e SIMA na Universidade Federal de Lavras. Teve três projetos PIBIC/CNPQ aprovados durante a graduação, todos na mesma linha de pesquisa de produção de cogumelo, entre eles, este que está sendo apresentado.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Antônio Marcos da Silva Freitas e à minha mãe Edinalva Aparecida Silva Freitas, que me educaram e me possibilitaram mais essa conquista, exemplos de vida fundamentais para a minha vida pessoal e profissional. Aos meus familiares e amigos que me sempre estiveram comigo nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força em minhas escolhas que me levaram a onde estou. Aos meus pais Antônio Marcos da Silva Freitas e Edinalva Aparecida Silva Freitas e ao meu Irmão Matheus Henrique da Silva Freitas que sempre me apoiaram.

Aos meus amigos e ao meu grupo de estudos CECOG (Centro de Estudos em Cogumelos) que me auxiliaram e possibilitaram na concretização do meu experimento. Obrigado a todos integrantes do grupo e ao meu orientador Prof. Dr. Diego Cunha Zied, pelo companheirismo, ensinamentos, paciência e confiança. Aqui também gostaria de deixar um agradecimento especial aos meus amigos Wagner Gonçalves Viera Junior e Isabela de Arruda Palú, por todo auxílio que me deram durante essa etapa na minha vida, muito obrigado.

E não menos importante, quero agradecer também a PIBIC/CNPQ por financiar essa pesquisa.

“Peçam, e será dado; busquem, e encontrarão; batam, e a porta será aberta. Pois tudo o que pede recebe; o que busca encontra; e àquele que bate, a porta será aberta.” (*Mateus 7:7-8*).

RESUMO

Nativo do leste asiático, o shiitake (*Lentinula edodes*) é um cogumelo utilizado para fins culinários e medicinais. A suplementação é um incremento na produção de cogumelos que se baseia na adição de fontes de nutrientes aos substratos. Nesse trabalho, buscou avaliar o efeito da suplementação líquida do substrato antes do 2º, 3º e 4º fluxo de colheita no cultivo de *L. edodes*, visando uma alternativa para minimizar a redução da sua produtividade durante o ciclo de cultivo. O substrato foi formulado de 72% de serragem, 12% de farelo de trigo, 12% farelo de arroz e 3% de carbonato de cálcio, sendo posteriormente umedecido até atingir 70% de umidade. Em seguida, o substrato foi ensacado (2 kg por saco), prensado, selado e submetido a autoclavagem a 121°C durante 4 horas. Após, os blocos foram inoculados com 2% de inóculo. Foram necessários cerca de 90 dias até a colonização e formação da capa micelial, onde em seguida iniciou a produção de cogumelos. Foram removidos os sacos plásticos e os blocos lavados em água corrente. O cultivo ocorreu em câmara específicas com temperatura de 19±2°C e umidade relativa de 85±5%. A colheita foi realizada manualmente, com aproximadamente 80 dias ao todo, sendo 20 dias entre fluxo, totalizando 160 dias aproximadamente, onde no 2º, 3º e 4º fluxo, ocorreu a suplementação de cobertura no substrato, com auxílio de uma seringa, antes ou depois da imersão dos blocos na água. As suplementações foram as seguintes: i) carbonato de cálcio (concentração de 2%); ii) sulfato de cálcio (concentração de 2%); e iii) nitrato de cálcio (concentração de 2%). Para tal, foi utilizada uma seringa, para aplicar doses de 40 mL nos blocos de cultivo. Ao final foram avaliados os seguintes parâmetros agrônômicos: produtividade (%), precocidade, massa média dos cogumelos (g), número de cogumelos (u), e índice de contaminação dos blocos. O experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo, contendo 2 momentos de aplicação x 3 suplementações x 2 doses, sendo 12 tratamentos, cada um com 10 repetições, totalizando 120 unidades experimentais. Os resultados obtidos referentes aos parâmetros agrônômicos de cada repetição foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Percebe-se que em questão de produtividade, número de cogumelos e massa média, as aplicações de nitrato de cálcio tiveram resultados relativamente menores comparados com os demais tratamentos. Conclui-se que a suplementação de carbonato de cálcio teve melhor desempenho.

Palavras-chave: Cogumelo. Shiitake. Suplementação líquida. Produtividade.

ABSTRACT

Native to East Asia, shiitake (*Lentinula edodes*) is a mushroom belonging to the phylum Basidiomycota, used for culinary and medicinal purposes. In this project, he sought to evaluate the effect of liquid supplementation of the substrate before the 2nd, 3rd and 4th harvest flow in the cultivation of *L. edodes*, aiming at an alternative to minimize the reduction of its productivity during the cultivation cycle. For cultivation, the substrate consisted of 72% sawdust, 12% wheat bran, 12% rice bran, 3% calcium carbonate, which was later moistened until reaching 70% humidity. Then the substrate was bagged (2 kg per bag), pressed, sealed and subjected to autoclaving at 121°C for 4 hours. Afterwards, the blocks were inoculated with 2% inoculum. It took about 90 days for colonization and formation of the mycelial layer, where mushroom production then began. The plastic bags were removed and the blocks washed in running water. Cultivation took place in specific chambers, with a temperature of $19\pm 2^{\circ}\text{C}$ and relative humidity of $85\pm 5\%$. The harvest was carried out manually, with approximately 80 days in total, with 20 days between flows, totaling approximately 160 days, where in the 2nd, 3rd and 4th flow, supplementation of coverage in the substrate occurred, with the aid of a syringe, before or after by immersing the blocks in water. Supplements were as follows: i) calcium carbonate (2% concentration); ii) calcium sulfate (2% concentration); and iii) calcium nitrate (2% concentration). For this, a syringe will be used to apply doses of 40 mL in the culture blocks. At the end, the following agronomic parameters were evaluated: productivity (%), precocity, average mass of mushrooms (g), number of mushrooms (u), and block contamination index. The experiment was conducted in a triple factorial scheme, containing 2 times of application x 3 supplements x 2 doses, with 12 treatments, each with 10 repetitions, totaling 120 experimental units. The results obtained referring to the agronomic parameters of each repetition will be evaluated by analysis of variance (ANOVA) and the means compared by the Tukey test at 5% probability.

Keywords: Mushroom. Shiitake. Supplemental coverage. Productivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características visuais do shiitake.....	20
Figura 2 - Blocos a base serragem no cultivo de shiitake.....	23
Figura 3 - Preparação do inóculo. A) Matriz primária (clonagem); B) Matriz secundária; C) Matriz terciária; D) micélio.....	29
Figura 4 - Formulação do substrato. A) Materiais utilizados para o preparo do substrato; B) Substrato homogeneizado	30
Figura 5 - Confeção dos blocos. A) Blocos ensacados sendo prensados; B) Blocos esterilizado sendo levado para a inoculação.....	30
Figura 6 - Blocos em temperatura e UR ideais alojados na câmara de alvenaria...	31
Figura 7 - Corrida do micélio ao longo da incubação.....	32
Figura 8 - Retirada dos sacos de polipropileno e lavagem dos blocos.....	32
Figura 9 - Blocos submetidos aos critérios de produção.....	33
Figura 10 - Cogumelos. A) Cogumelos no ponto ideal de colheita; B) Cogumelos colhidos e pesados; C) Seleção dos cogumelos mais vistosos.....	34
Figura 11 - Suplementação de cobertura. A) carbonato de cálcio; B) sulfato de cálcio; C) nitrato de cálcio.....	36
Figura 12 - Dose de suplementação A) Blocos com dose de 20 mL; B) blocos com dose de 40 mL.....	36
Figura 13 - Sanitização da caixa d'água.....	37
Figura 14 - Indução de primórdios. A) Submersão dos blocos contaminados; B) Submersão dos blocos sadios.....	37
Figura 15 - Bloco após a suplementação com alguns primórdios.....	38
Figura 16 - Ciclo de cultivo de <i>L. edodes</i> com duração de 180 dias, com 3 fluxos de colheita. Setas vermelhas indicam o momento em que ocorrerá a suplementação, antes e/ou depois da imersão do substrato na água.....	39
Figura 17 - Bloco contaminado.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soluções e dosagem aplicadas em blocos de Shitake antes e depois do choque hídrico.....	35
Tabela 2 - Análise da produtividade com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento.....	42
Tabela 3 - Análise do número de basidiomas com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento.....	43
Tabela 4 - Análise da massa média com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento.....	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Reino Fungi	18
3.1.1 Ciclo vegetativo e reprodutivo	19
3.2 Shiitake – <i>Lentinula edodes</i>	20
3.2.1 Cultivo em toras	21
3.2.2 Cultivo axênico	22
3.3 Utilização de resíduos agroindustriais para o cultivo de cogumelo.....	24
3.4 Suplementação.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÃO.....	47
7 REFERÊNCIAS.....	48

1 INTRODUÇÃO

O *Lentinula edodes* é um cogumelo de origem Asiática, mais especificamente da China, Japão e Coréia do Sul (KAZUKO, 2006), sendo conhecido como “*Black Mushroom*”, cogumelo japonês da floresta, e o mais popular “shiitake”. O interesse no consumo do shiitake é atribuído a sua propriedade nutricional e medicinal, e também por sua palatabilidade, e facilidade de cultivo, tornando-o o primeiro cogumelo mais consumido no mundo (ROYSE et al., 2017).

Este cogumelo foi descoberto em troncos de árvores caídos ao solo, que se rompiam após uma forte tempestade ou vendaval (VANE et al., 2003). posteriormente verificou-se um enorme potencial de cultivá-lo em troncos de madeira, providas de árvores como o carvalho e castanheiras (LIN et al., 2000). No Brasil a primeira árvore utilizada foi o eucalipto (QUEIROZ NEVES; et al., 2008). No entanto a tecnologia de cultivo de shiitake em toras passou a ser ultrapassada, devido à dificuldade do manejo, a inconstância da produtividade e principalmente o longo tempo necessário para o cultivo (MINHONI et al., 2008).

Durante o ciclo de cultivo do shiitake é comum a redução da produtividade, sendo que o substrato pode ser reutilizado até 4 fluxos de produção (PASCHOLATI; et al., 2014), ao longo do cultivo, se observa uma alteração química e redução de conteúdo lignocelulósico do substrato antes da inoculação e após o ciclo de produção (ATILA, 2019; ALBINO et al., 2020). Nesse sentido, é necessário buscar alternativa para minimizar essa redução de produtividade, através de técnicas no cultivo, como a suplementação líquida.

A suplementação em cogumelos é baseada em um método que se adiciona componentes nutritivos em diferentes momentos do cultivo, tendo sua adoção restrita dependendo de condições técnicas e financeiras. Além dessas questões, deve se levar em conta o tipo de nutriente e o momento mais adequado para a aplicação (CARRASCO et al., 2018).

É importante salientar que a literatura referente sobre a suplementação líquida no cultivo de *Lentinula edodes* é quase inexistente, pouco se sabe sobre seus benefícios na produtividade, massa média, entre outros parâmetros. A

disposição de nutrientes no substrato é um fator implicante na rentabilidade, onde o micélio absorve moléculas de nutrientes para seu desenvolvimento

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação líquida do substrato antes do 2º, 3º e 4º fluxo de colheita no cultivo de *L. edodes*, por meio da aplicação de doses de soluções carbonatadas, realizada antes ou depois da indução.

2.2 Objetivos específicos

Identificar as melhores suplementações, dose e momento de aplicação com relação aos parâmetros agrônômicos analisados.

Verificar a eficiência da suplementação ao longo dos fluxos de colheita.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Reino Fungi

Os fungos são seres eucariontes e heterotróficos unicelulares ou pluricelulares, grande parte sendo de espécies filamentosas constituídas por hifas (septada ou cenocítica), que juntas formam o micélio, sendo encontrados em ambientes distintos. Apesar de já terem sido classificados junto as plantas na década de 1960, os fungos passaram a pertencer ao Reino Fungi, por não apresentarem clorofila ou qualquer outro pigmento fotossintetizante, sendo necessária a absorção de nutrientes através de digestão externa (BITTENCOURT, 2007).

Dentre os fungos, os cogumelos pertencem ao domínio *Eukarya*, reino *fungi* e filo *Basidiomycota*. Os basidiocarpos, basidiomas ou popularmente conhecidos como cogumelos, podem se desenvolver em estado silvestre ou então, serem cultivados pelo homem para diversos fins (ORSINE; BRITO; NOVAES, 2012). As partes mais proeminentes são a estipe e o píleo, na qual na sua porção inferior, está localizado o himênio (parte fértil do cogumelo), com uma superfície lamelar compostas de lâminas, sendo que em cada fração desta, possui estruturas denominadas cistídeos (as), árafises e basídias (URBEN; CORREIA, 2017).

Os Agaricales (Basidiomycota) apresentam diversas aplicabilidades, tendo o maior número de espécies comestíveis, medicinais, tóxicos, micorrízicos, saprófitas, parasitas, entre outros, sendo bastante atrativo na perspectiva alimentícia, farmacológica, etnológico, industrial e ecológico (Pulido, 1983; Alexopoulos et al., 1996).

Os Agaricales (Basidiomycota), são considerados macrofungos, classificados em três grandes grupos, comestíveis ou medicinais, alucinógenos e tóxicos. Apresentam diversas aptidões e peculiaridades que os tornam bastantes promissores ao cultivo, entre elas, o potencial nutracêutico, incluindo alto teor de proteínas, aminoácidos essenciais, fibras, vitaminas, minerais, baixo teor de gordura e sódio, que os tornam de grande relevância, uma vez

que atendem aos requisitos propostos pela OMS (CRISPIM, 2023) e também o uso culinário, que é apreciado desde a antiguidade (URBEN; URIARTT, 2017).

No Brasil, estima-se que a biodiversidade fúngica é de entorno de 150 a 264 mil espécies (LEWINSHN; PRADO, 2005), sendo que cerca de 1200 espécies de fungos são agaricoides. No entanto, existe uma carência de informações a respeito da comestibilidade da maioria destes, devido à dificuldade de identificação das espécies (PUTZKE; PUTZKE, 2017, 2018). No levantamento de cogumelos da família Agaricaceae no Brasil, foram catalogadas cerca de 165 espécies, das quais 41 (24,8%) são comestíveis e 12 (7,3%) tóxicos, os demais são ausentes de informação quanto a sua utilidade (MAGGIO, et al., 2021).

Dentre as espécies de cogumelos mais conhecida e cultivadas, o *Lentinula edodes*, conhecido como Shiitake, está entre umas das espécies mais consumidas no Brasil (FURLANI; GODOY, 2007), um fungo lenhoso, benéfico e exótico (Pacumbaba, R.P; Pacumbaba, R.O, Jr, 1999), com um aroma e textura especial, além de um alto teor proteico, tornando este, bastante apreciado pelos seus consumidores (URBEN; URIARTT, 2017).

3.1.1 Ciclo vegetativo e reprodutivo

Os Agaricales se reproduzem por meio da formação de esporos que podem ser sexuais ou assexuados. Também é possível que o fungo adquira a variabilidade genética por meio de um processo denominado parasexualidade (NOA; GHINDA, 2022). O ciclo se inicia quando os basidiomas liberam pela lamela basidiósporos que são facilmente disseminados pelo vento, que ao germinarem produzem hifas que ao se proliferarem formam o micélio, que por sua vez, pode ser classificado como vegetativo (nutrição) e reprodutivo (formação de órgão de reprodução e multiplicação) (NOA; GHINDA, 2022), onde após a diferenciação, passam a ser corpos de frutificação (URBEN, URIARTT, 2017).

Os basidiomas são as estruturas reprodutivas oriundas de um micélio perene que se distribui pelo substrato. Na multiplicação de fungos comestíveis em laboratórios permitem manter as características da linhagem cultivada,

onde ocorre a fragmentação do micélio, que, quando colocado em condições adequadas de temperatura, umidade e substrato, origina-se um cogumelo (NOA; GHINDA, 2022).

3.2 Shiitake – *Lentinula edodes*

O shiitake possui um píleo convexo a aplanado, subumbonado ou deprimido, com coloração que varia de pardo a marrom-escuro, pigmentação escura ao centro e tons mais claros nas margens, apresenta escamas triangulares, é liso, seco e carnosos (URBEN; CORREIA, 2017). A estipe possui um formato cilíndrico, posicionado no centro do píleo, é geralmente comprido, com superfície fibrosa e lisa (figura 1). Esse órgão é responsável pelo suporte do píleo e pela translocação de água e nutrientes (EIRA; BUENO, 2005).

Figura 1: Características visuais do shiitake.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Nos estágios iniciais de desenvolvimento (primórdios), o cogumelo apresenta suas bordas dobradas adentro, escondendo o véu interno, os primórdios são formados a partir da maturação do micélio binuclear sob

condições favoráveis. Enquanto que na maturidade plena, o véu se rompe, na qual é possível observar as lamelas onde ficam os esporos incumbido pela reprodução (EIRA; BUENO, 2005).

O shiitake juntamente com outros basidiomicetos, fazem parte de um grupo denominado “fungos de podridão branca”, na qual detêm enzimas capazes de degradar os polissacarídeos (lignina, celulose e hemicelulose) das paredes celulares dos tecidos vegetais. Esse desenvolvimento também pode acontecer a partir de alguma outra matéria-prima que detenha celulose (CAMPOS et al., 2022).

O ciclo natural do cogumelo ocorre em florestas através da mudança brusca de umidade e/ou temperatura, gerando assim os primórdios que se transformam em cogumelos. Porém este pode ser cultivado em toras de eucalipto, serragem entre outros substratos lignocelulósicos (EIRA; BUENO, 2005). Para esses meios de produção, a escolha das linhagens é um fator imprescindível para se obter sucesso no cultivo de Shiitake, pois a velocidade de desenvolvimento micelial, a temperatura e a umidade adequada para a incubação, maturação do micélio e frutificação, ao tamanho, resistência a microrganismos contaminantes e a produtividade se diferem com relação a linhagem usada no cultivo (Teixeira, 2000).

Devido suas propriedades nutricional e medicinal, pelo seu sabor e aroma apreciáveis, fez do shiitake o segundo cogumelo mais consumido no mundo (URBEN; URIARTT, 2017), chegando a mais de 6 milhões de toneladas em países asiáticos em 2012 (PHAN; SABARATNAM, 2012; MA et al., 2015). O Brasil apesar não se descartar na fungicultura, após a pandemia de Covid-19, houve um aumento de produtores, em razão do fechamento das fronteiras internacionais em 2020 (NASCIMENTO; GARCIA, 2022).

3.2.1 Cultivo em toras

O cultivo do shiitake em toras deu início na China há quase mil anos e ainda é uma técnica tradicional muito usada pelos produtores de cogumelos em razão a sua facilidade, baixo custo inicial e boa rentabilidade. Diversas espécies com propriedades físico-químicas distintas são indicadas no cultivo de

shiitake, entre elas o *Eucalyptus saligna* (vermelho), *E. grandis* (branco), *E. dumii*, *E. globulus* e *E. camaldulensis* (PASCHOLATI, et al., 2014).

Este método consiste na inoculação do fungo em toras de espécies arbóreas, como por exemplo, o eucalipto, que é amplamente utilizado no Brasil na produção de shiitake devido à sua fácil disponibilidade, baixo custo e bons resultados a nível de produção comercial (PASCHOLATI; et al., 2014).

O Shiitake adapta-se a diversas espécies de madeira desde que não sejam resinosas e aromáticas. A idade da planta é um fato bastante importante, pois está correlacionado com o diâmetro do mourão ou na densidade da madeira. Elas não devem ser muito espessas, pois isso aumentará significativamente o tempo de colonização e também a chance de surgimento de patógenos contaminantes. No entanto, não é recomendado também toras finas, com a justificativa de que a produção não seja muito curta devido ao rápido esgotamento dos nutrientes. Embora o custo seja menor, essa colheita de toras requer mais espaço para colocar as toras, mais mão de obra para manejar e menor produtividade (PASCHOLATI, et al., 2014).

3.2.2 Cultivo axênico

Para o aproveitamento dos resíduos agroflorestais e reduzir os impactos no meio ambiente, materiais como serragem, suplementos amiláceos, como farelos ricos em proteína e nutrientes, adicionados de condicionadores para a correção de pH, são utilizados para o cultivo dos cogumelos. Esses insumos utilizados, proporcionam um crescimento micelial de qualidade e uma produção significativa em pequenos espaços. O sistema pode ser realizado em substrato feito a partir da serragem, geralmente oriunda de eucalipto ou por meio da técnica de Jun-Cao (gramíneas), onde o fungo degrada a lignina presente no substrato. (PASCHOLATI; et al., 2014). A composição do substrato deve ser selecionada levando em consideração os locais de cultivo (URBEN, 2017).

Durante a década de 50 ocorrem avanço no cultivo, com a inoculação de esporos, enquanto que na década de 70, surgiram resultados expressivos com o cultivo em sacos plástico contendo a mistura de substrato de serragem suplementado com farelo de arroz e água. Garantindo um meio com

disponibilidade de nutrientes e adequado para o desenvolvimento do cogumelo. Esse método inovador se baseia nas mesmas etapas que o cultivo em tora, porém este, contribuiu para a preservação dos recursos naturais, e auxiliou no aumento da produtividade em escala comercial (PASCHOLATI; et al., 2014).

Logo adaptou-se o cultivo para a produção em serragem, cultivo conhecido popularmente como produção em “panetone” ou blocos (figura 2), que consiste na seleção da serragem, suplementação com farelo de trigo e arroz, e correção do pH do substrato com carbonato de cálcio (ZIED et al., 2016). Em seguida, esse substrato é umedecido até atingir aproximadamente 70% de umidade e logo depois é autoclavado à 121°C por 4 horas (SOUSA et al., 2019). Depois da esterilização, o substrato deve esfriar por um dia e a inoculação deve ser conduzida em uma câmara de fluxo laminar após esse período, onde adiciona adicionou-se uma quantidade de 2% referente ao peso total (CALGAROTO, 2019). Para a colonização do substrato e posterior formação da capa micelial, o substrato é conduzido para ser incubado em uma faixa de temperaturas entre 25 a 28°C durante 90 dias, reduzindo problemas de contaminação e perda parcial ou total da produção (NOA; GHINDA, 2022).

Figura 2: Blocos a base serragem no cultivo de shiitake.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A produção dos cogumelos inicia-se em média aos 100 dias após a inoculação, quando os blocos são levados a câmara de produção, com

temperatura controlada em 19°C e umidade relativa de 90±2°C (SHEN et al., 2008). Deve-se destacar que o tempo entre um fluxo e outro é de aproximadamente 20 dias e ao termino de um fluxo de colheita, os blocos são submersos em água (temperatura ambiente) por 8 horas, visando a indução de primórdios.

Apesar dos custos mais elevados, os produtores adotaram a técnica pois oferece rendimentos muito maiores, além de uma colheita mais rápida (PASCHOLATI; et al., 2014).

3.3 Utilização de resíduos agroindustriais para o cultivo de cogumelo

Partindo da colheita até o processamento dos produtos do agronegócio, a atividade agropecuária gera uma grande quantidade de resíduos que, muitas vezes, não tem uma devida alocação. Segundo a EMBRAPA, todas as culturas geram resíduos que podem ser aproveitados para outras aplicações, a produção de cogumelo é uma delas, pois esses resíduos são ricos em nutrientes. Se tratando disso, o Brasil tem alto potencial para produção dessa classe de fungos, por contar com diversos resíduos agrícolas. Cogumelos podem ser cultivados em palha de arroz ou outros substratos lignocelulósicos, um dos substratos mais populares para a produção de *L. edodes* é a serragem (GAO, et al. 2020).

No cultivo de shiitake com substrato, empresas especializadas podem fornecer a matéria-prima na forma de blocos já inoculados. Por meio da técnica de Jun-Cao é possível a produção de shiitake através do preparo do substrato a base de gramíneas (volumoso), junto com suplementos, gesso agrícola e água (PASCHOLATI; et al., 2014).

Nesse sentido, a produção do cogumelo shiitake é uma ótima alternativa no ramo agrícola ou madeireiro, onde, conseqüentemente possibilita a diminuição de incômodos ambientais pelo armazenamento ou descarte indevidos destes materiais (NOA; GHINDA, 2022).

Kumar et al. (2022) avaliou a produção sustentável do cogumelo Shiitake a partir de resíduos agroindustriais. O substrato a base de palha de arroz (80%) e bagaço de cana (20%) foi umedecido com diferentes concentrações (0% -

controle, 50 e 100%) de efluentes de laticínios e de usina de cana-de-açúcar, onde foi evidenciado aumento nos teores de nutrientes do substrato, conseqüentemente, maior rendimento de cogumelos. Verificou também uma maior cobertura micelial, eficiência biológica, conteúdo de compostos bioativos e a absorção de metais pesados.

O uso dos resíduos orgânicos disponíveis, em especial a serragem das serrarias, pode ser uma alternativa para reduzir custos através da ciclagem de nutrientes. Devido sua decomposição lenta, além do sequestro temporariamente de nitratos do solo, ela não é muito utilizada para a adubação orgânica, sendo necessários novas pesquisas a respeito de compostos orgânicos produzidos com materiais com alta relação C/N, como é o caso da serragem, e seu efeito nutricional (PEREIRA et al., 2020).

3.4 Suplementação

Com intuito de maximizar os rendimentos na produção de cogumelos, a suplementação é utilizada para a aplicação de aditivos nutricionais aos substratos utilizados para o cultivo. No entanto, sua difusão global é algo ainda restrito devido embaraços técnicos e econômicos, além da ausência de tecnologias específicas para cada região (CARRASCO et al.; 2018).

Suplementos são necessários para fornecer ou repor nutrientes que o substrato base não pode fornecer, ou mesmo para prover substâncias que melhorarem as propriedades físicas. A suplementação associada com o tipo de matéria-prima utilizada no cultivo, atribui benefícios durante a produção de cogumelos por meio do aumento da acesso física e enzimático dos nutrientes para o crescimento e desenvolvimento do fungo. A suplementação varia de acordo com a matéria-prima que compõe o substrato, o que justifica a existência de diferentes recomendações. (CARRASCO et al.; 2018)

Entre os nutrientes, um dos mais essenciais para o desenvolvimento micelial são o carbono (C), o nitrogênio (N), minerais e vitaminas. Não obstante, o Fosforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), magnésio (Mn), zinco (Zn), molibdênio (Mo), e cobalto (Co) também são nutrientes importantes para o desenvolvimento fúngicos (URBEN, 2017).

O cogumelo seco corresponde entre 50% e 60% de C na sua composição, por meio deste nutriente, o micélio absorve ácidos orgânicos e álcoois diretamente e assim substâncias lignocelulósicas são catalisadas em moléculas mais simples, através de enzimas secretadas pelo micélio. Para o desenvolvimento, é necessário que haja um balanço adequado na relação C/N, o que reflete em um supercrescimento micelial (URBEN; URIARTT, 2017). Muitos macronutrientes estão ligados na construção de componentes celulares, no aumento do metabolismo, sendo assim, demonstra a necessidade de estudo de reposição desses compostos ao substrato, garantindo maiores rendimentos (NOA; GHINDA; 2022).

Grande parcela dos nutrientes comercialmente negociados são constituídos por altos teores de nitrogênio e não há indícios que suplementos de porcentual proteico baseado em fontes ricas de carbono melhora o desempenho dos basidiomas da mesma proporção que do que a adição de nitrogênio (CARRASCO et al.; 2018).

Nitrato de cálcio é composto em média de 14% do seu teor de N e 16% em Ca, dois nutrientes essenciais para o crescimento saudável dos cogumelos. Mantovani, et al. (2007) observou que nitrogênio da ureia aumentou o crescimento fúngico quando comparado com sulfato de amônio. É um dos suplementos utilizados para melhorar o desenvolvimento e a produção de cogumelos (CARRASCO et al.; 2018).

O nitrogênio é essencial para a síntese de ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas, importante para o desenvolvimento das estruturas celulares do cogumelo. Cultivos modernos de *L. edodes* usam substratos formulados a base de serragem junto com suplementos ricos em nitrogênio (NOA; GHINDA, 2022). No entanto, há evidências de que o excesso de nitrogênio mineral ou orgânico não apenas afeta negativamente o crescimento micelial, mas também pode inibir a síntese de enzimas degradadoras de lignina.

O carbonato de cálcio é um aditivo regulador do pH do substrato (BRITO, 2012), com intuito de garantir melhores condições para o desenvolvimento do micélio, o que resulta em um aumento do rendimento e da qualidade dos cogumelos (ZIED, 2021), além de reduzir o crescimento de microrganismos indesejáveis, como fungos competidores.

A falta de cálcio pode resultar em problemas no desenvolvimento dos basidiomas, como deformações e crescimento deficiente. De certo modo, o acréscimo nas doses de carbonato de cálcio resulta no aumento do pH (URBEN, 2017), o torna o substrato eficiente em questão de rendimentos (ZIED, 2021)

Assim com o carbonato, os sulfatos e óxidos de cálcio podem ser usados em pequenas quantidades (0, 5-3 % em peso seco) para afinar o pH (BRITO, 2012). Além de tamponantes, esses minerais aprimoram a textura do substrato e são fonte de cálcio, importante nutriente para o micélio, no fortalecimento da parede celular dos cogumelos (G. ROLLÁN, 2003).

Um dos aditivos mais aplicados e baratos no cultivo de cogumelos é o gesso que opera como um grande fornecedor de cálcio (16%) e enxofre (13%), sendo um ótimo aliado ao desenvolvimento do micélio (ZIED,2021). Esta matéria-prima é um subproduto da produção de fertilizantes agrícolas fosfatados. O gesso não possui componentes químicos capazes de neutralizar meios ácidos, porém, atua como um tampão nas variações de pH decorrentes de substâncias sintetizadas micélio do fungo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Estudo em Cogumelos (CECOG) da FCAT - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena – Unesp, sendo dividido em três etapas: 1) a produção do inóculo, onde se utilizou a linhagem 19/11, 2) formulação do substrato e 3) colheita.

4.1 Preparação do inóculo

A linhagem denominada LED 19/11 foi usada da micoteca do Centro de estudos em cogumelos (CECOG), esta linhagem foi isolada de cultivo comercial na cidade de Botucatu, e possui excelente desempenho agrônômico.

O inóculo foi produzido através da metodologia proposta por Zied et al. (2018) dos quais consistiram nas etapas de produção de matriz primária, secundária, terciária e micélio (figura 3).

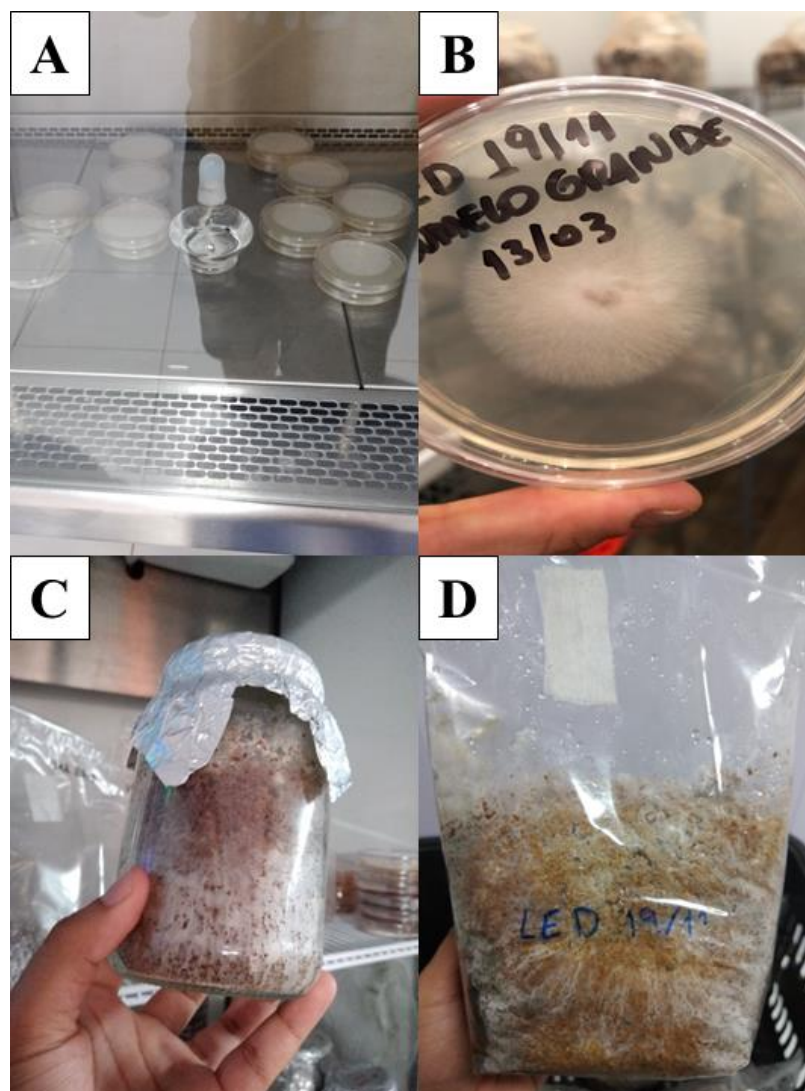
Na clonagem, utilizou-se fragmentos do píleo que foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura (BDA), em seguida incubadas a uma temperatura de 26°C.

Após o fechamento das placas, utilizou-se um furador de cobre na espessura de 15 mm, onde fragmentos circulares foram adicionados a umas novas placas de Petri com o mesmo meio de cultura.

A matriz terciária foi confeccionada em substrato contendo 68% de serragem de eucalipto, 12,5% de farelo de trigo, 12,5% farelo de arroz, 3% de carbonato de cálcio (correção do pH) e 4% de moinha de carvão. O material foi disposto em frascos de vidro e autoclavados em uma temperatura de 121°C durante 4 horas. Em seguida em câmara de fluxo laminar, fragmentos provindos da matriz secundária foram adicionadas aos frascos que posteriormente foram fechados e incubados a uma temperatura de 28°C.

Por fim, utilizou-se pequenas quantidades de matriz terciária (2%) para a inoculação da “semente” /inóculo final. Este foi incubado até a total colonização e em seguida utilizado para inoculação do substrato.

Figura 3: Preparação do inóculo. A) Matriz primária (clonagem); B) Matriz secundário; C) Matriz terciária; D) micélio.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Preparo do substrato

O substrato foi constituído de materiais volumosos, concentrados e condicionadores, sendo: 72% de serragem de eucalipto, 12,5% de farelo de trigo, 12,5% farelo de arroz e 3% de carbonato de cálcio (figura 4). Os ingredientes foram homogeneizados e umedecidos até atingirem a umidade aproximada de 70%, em seguida, foram ensacados e prensados, onde cada unidade continha 2kg (figura 5). Ao final, os blocos foram autoclavados durante 4 horas em uma temperatura constante de 121°C.

Figura 4: Formulação do substrato. A) Materiais utilizados para o preparo do substrato; B) Substrato homogeneizado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5: Confeção dos blocos. A) Blocos ensacados sendo prensados; B) Blocos esterilizado sendo levado para a inoculação



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Inoculação, incubação e maturação do substrato:

A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar, com a adição de 2% (referente ao peso do bloco) de inóculo, previamente preparado como metodologia descrita anteriormente. Em seguida os blocos foram selados e incubados a uma temperatura de $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 5\%$ por 80 dias, sendo o período dividido em 35 dias para corrida do micélio e 45 para a formação da capa micelial (figura 6).

Figura 6: Incubação dos blocos em câmara de alvenaria em temperatura e UR ideais.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme o avanço dos dias de incubação era possível perceber alterações dos blocos (figura 7), sendo a mais perceptível a mudança de coloração, além do surgimento abrupto de saliência irregulares esbranquiçadas ao longo dos blocos, popularmente conhecidas como "pipocas", que evoluíram sucessivamente para pequenas fendas que auxiliaram no descolamento do saco plástico do substrato e por fim, os blocos se tornaram mais ríspidos com um tom amarronzado, quando se sucedeu na remoção dos blocos dos sacos plásticos.

Figura 7: Corrida do micélio e formação da capa micelial ao longo da incubação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Descolamento e lavagem dos blocos:

No octogésimo primeiro dia, os sacos plásticos foram retirados e os blocos lavados (água corrente) para a remoção do exsudato (figura 8). Em seguida foram conduzidos a câmara de produção (figura 9), onde permaneceram até o final do cultivo em uma temperatura de $19\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $85\pm 5\%$.

Figura 8: Retirada dos sacos de polipropileno e lavagem dos blocos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9: Blocos submetidos aos critérios de produção.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Colheita:

A colheita foi realizada manualmente, perfazendo ao final 4 fluxos de produção, com duração de 20 dias cada (figura 10). Em todos os fluxos os cogumelos foram pesados e contados para determinação dos parâmetros agrônômicos.

Figura 10: Cogumelos. A) Cogumelos no ponto ideal de colheita; B) Cogumelos colhidos e pesados; C) Seleção dos cogumelos mais vistosos



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.6 Submersão e suplementação mineral dos blocos:

Para estimular a produção do fungo, foi realizado a indução dos primórdios (choque) por meio da imersão dos blocos na água durante 8 horas, impulsionando a frutificação nos fluxos subsequentes (figura 15).

A suplementação do substrato ocorreu em momentos distintos de acordo com os tratamentos, sendo feita antes e/ou depois da emersão dos blocos. Os substratos foram suplementados por meio de uma seringa com diferentes soluções, sendo elas: i) carbonato de cálcio (concentração de 2%); ii) sulfato de cálcio (concentração de 2%); e iii) nitrato de cálcio (concentração de 2%) (figura 11). Estas soluções foram aplicadas em duas doses, 1% e 2% em relação ao peso úmido do substrato, ou seja, 20 e 40 mL por bloco (Tabela 1).

O experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo, contendo 2 momentos de aplicação x 3 suplementações x 2 doses, totalizando 12 tratamentos, cada um com 10 repetições (blocos com 2 kg de substrato), totalizando 120 unidades experimentais.

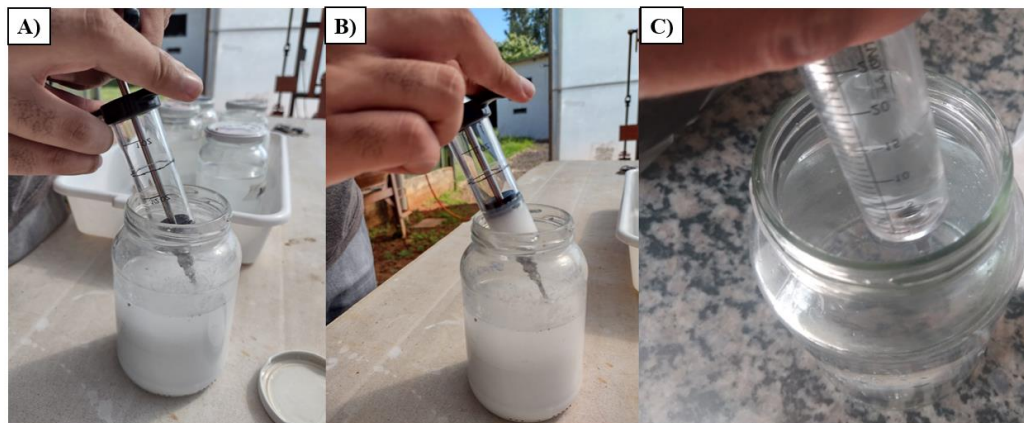
Tabela 1: Soluções e dosagem aplicadas em blocos de Shitake antes e depois do choque hídrico.

Tratamentos	Momentos	Doses	Suplemento
T1		20 mL	CaCO ₃
T2		40 mL	CaCO ₃
T3	Antes do choque hídrico	20 mL	CaSO ₄
T4		40 mL	CaSO ₄
T5		20 mL	Ca (NO ₃) ₂
T6		40 mL	Ca (NO ₃) ₂
T7		20 mL	CaCO ₃
T8		40 mL	CaCO ₃
T9	Depois do choque hídrico	20 mL	CaSO ₄
T10		40 mL	CaSO ₄
T11		20 mL	Ca (NO ₃) ₂
T12		40 mL	Ca (NO ₃) ₂

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os blocos com dose de 20 mL, independentemente do momento e solução, foram aplicados abaixo do bloco. Enquanto que os blocos com dose de 40 mL tiveram sua aplicação dividida em dois lados do bloco (figura 12). Essa medida foi adotada para todos os blocos, como forma de padronização.

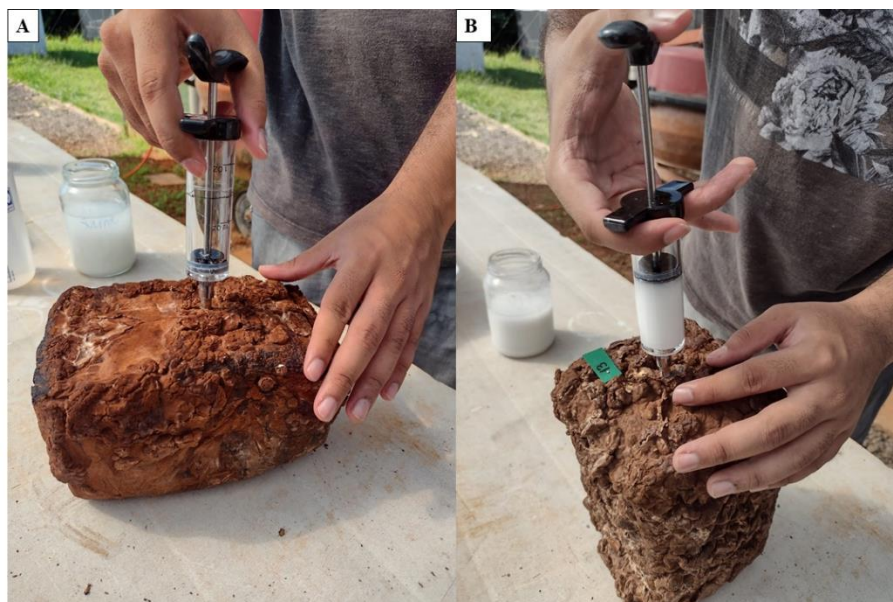
Figura 11: Suplementação líquida. A) carbonato de cálcio; B) sulfato de cálcio; C) nitrato de cálcio.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a submersão dos blocos para o choque, primeiramente ocorreu a sanitização do tanque e da caixa d'água (figura 13). A imersão ocorreu em dois momentos distintos, sendo estes, antes ou depois da suplementação mineral, ambos com o tempo de 8 horas de submersão (figura 14).

Figura 12: Dose de suplementação A) Blocos com dose de 20 mL; B) blocos com dose de 40 mL.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13: Sanitização da caixa d'água.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14: Indução de primórdios. A) Submersão dos blocos contaminados; B) Submersão dos blocos saudáveis.



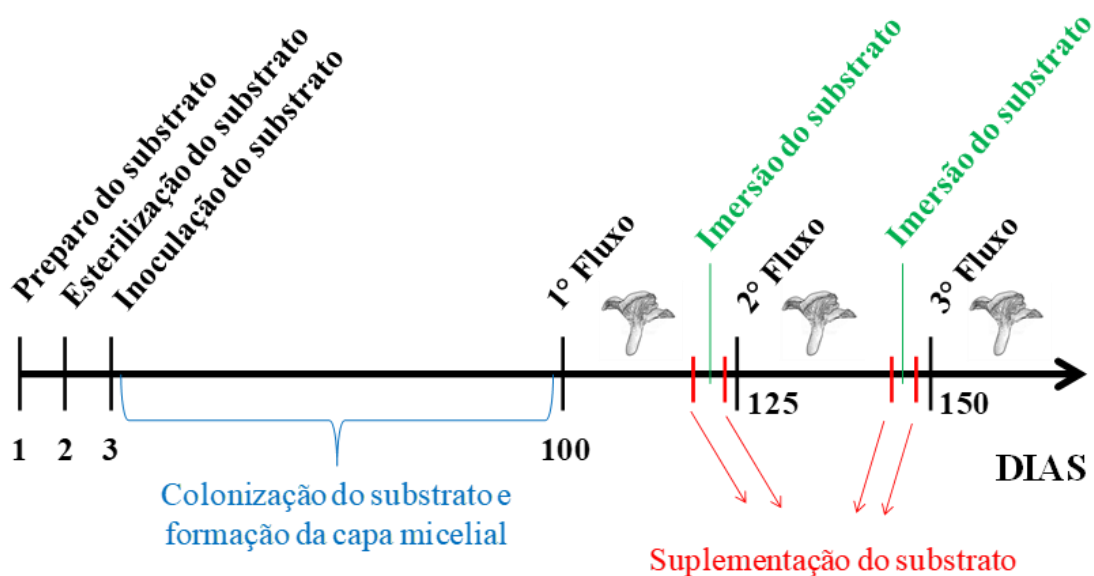
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15: Bloco após a suplementação com alguns primórdios



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16: Ciclo de cultivo de *L. edodes* com duração de 180 dias, com 3 fluxos de colheita. Setas vermelhas indicam o momento em que ocorreu a suplementação, antes e/ou depois da imersão do substrato na água.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.7 Parâmetros agronômicos avaliados

Foram avaliados ao longo do experimento os seguintes parâmetros agronômicos: produtividade (%), precocidade, massa média dos cogumelos (g), número de cogumelos (u), e índice de contaminação dos blocos.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.7.1 Produtividade (%)

A produtividade foi calculada através da relação da relação entre a massa total do substrato, levando em conta a quantidade total de unidades experimentais, e a massa fresca (MF) dos cogumelos colhidos no fluxo em questão:

$$\text{Produtividade (\%)} = \frac{\text{MF cogumelos}}{(120 \times 2)} \times 100$$

4.7.2 Precocidade

No cálculo da precocidade (PC), o período de colheita (dias) foi dividido em duas partes iguais, contados desde o primeiro cogumelo colhido até o último, obtendo assim dois períodos, equivalentes à primeira metade do tempo de colheita e segunda metade do tempo de colheita (ZIED, 2008). Sendo assim, a técnica de suplementação será considerada precoce se apresentar sua maior produção no primeiro período, ou tardia, se apresentar sua maior produção no segundo período

4.7.3 Massa média dos cogumelos (g)

A massa média (Mm) foi estipulada através da razão da massa fresca total de basidiomas colhidos (MFcog) pelo número total de cogumelos colhidos (Ncog), através da seguinte fórmula (ZIED, 2008):

$$Mm (g) = \frac{MFcog (g)}{Ncog (total)}$$

4.7.4 Número de cogumelos (u)

O número de cogumelos (Ncog) foi calculado por meio da contagem diária dos cogumelos durante a colheita. Ao final do período de colheita, foi realizada a soma para obtenção do total de cogumelos colhidos durante o cultivo, através da seguinte fórmula:

$$Ncog = T1 + T2 + T3 + T4 \dots + T16$$

4.7.5 Índice de contaminação dos blocos

O índice de contaminação dos blocos se determinou pela soma de blocos que se contaminaram dividido pelo total de unidades experimentais, multiplicado pelo por 100%. A análise visual foi baseada através da presença de machas verdes na superfície do bloco.

$$Icb = \frac{n}{128} \times 100\%$$

Imagem 17: Bloco contaminado



Fonte: elaborado pelo autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao desempenho do cultivo (tabela 2), as doses diferiram apenas na aplicação de Nitrato de Calcio, onde a dosagem de 40 mL feita antes da indução dos primórdios, apresentou maiores médias de produtividade. As demais soluções, comportaram-se de maneira igual, independentemente da dose aplicada.

Em questão do momento de aplicação, observa-se que a aplicação após o choque com dosagem de 40 mL afeta os rendimentos com exceção do tratamento de suplementação através de Nitrato de Calcio, onde o momento é indiferente.

De modo geral foi verificado que os resultados referentes as suplementações não mostraram diferenças significativas entre si, estatisticamente apresentando médias iguais, com exceção do tratamento antes do choque com a dosagem de 20 mL, onde o Nitrato de Cálcio, foi menos expressivo do que as demais, sendo recomendado aplicado nesse caso, na dose de 40 mL por aumentar a produtividade. Estatisticamente, o momento de aplicação se mostra indiferente quando utilizando a dosagem de 20 mL, a qual foi considerada com maior aptidão dentro as dosagens estudadas, por demandar menor quantidade de produto e em geral, obter maiores médias.

Tabela 2: Análise da produtividade com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento (%).

Momento	Suplementação			Dose
	Carbonato de cálcio	Sulfato de cálcio	Nitrato de cálcio	
Antes	36,35 Aaα	40,46 Aaα	26,51 Abβ	20 mL
	43,00 Aaα	37,37 Aaα	38,65 Aaα	40 mL
Depois	28,01 Aaα	31,70 Aaα	26,78 Aaα	20 mL
	27,30 Baα	25,47 Baα	28,72 Aaα	40 mL

CV (%) = 34.97

Letras maiúsculas compararam as doses em momentos distintos, as letras minúsculas compararam as doses dentro do mesmo momento enquanto que as letras gregas compararam suplementações.

Após dois dias a abertura dos sacos e remoção do exsudado, os blocos já estavam formando os primeiros primórdios, em quatro dias os blocos submetidos nas condições de produção já se via cogumelos pelo bloco. No primeiro fluxo foi observado o surgimento de cogumelo maiores e de maior massa, no entanto, nesse período foi aonde apresentou maior índices de cogumelos com má formação, esse problema não foi evidenciado nos demais fluxos.

Mesmo que o primeiro fluxo tenha se destacado na produção de cogumelos mais robusto, o terceiro fluxo apresentou o maior número de cogumelos, com o total de 824 cogumelos contabilizados, seguido do 4^a fluxo, tendo ao total 809 unidades, 1^a fluxo, com 602 unidades e por fim o 2^a fluxo que rendeu a menor quantia de basidiomas contabilizados, com 357 cogumelos.

Referente ao número de basidiomas com relação as variáveis analisadas (Tabela 3), foi visto que quando as aplicações de 20 mL realizadas em momentos distintos, independente da suplementação, não houve

diferenças significativas que pudessem refletir no fator quantitativo de cogumelos. Porém, com relação as doses de 40 mL, as suplantações feitas depois do estímulo da frutificação, apresentaram um desempenho mais baixo comparadas as realizadas antes.

Foi averiguado que tanto o carbonato de cálcio como o nitrato de cálcio ao serem aplicados em dose de 20 mL antes do choque, apresentaram um desempenho inferior em relação a suplementado feita a 2%. As demais suplementações feitas antes comportarem-se da mesma maneira e isso se a semelha com as aplicações conduzidas após o choque.

Não foram encontradas diferenças estatísticas em no requisito tipos de suplementação, onde os resultados se comportaram da mesma maneira.

Tabela 3: Análise do número de basidiomas com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento (uni).

Momento	Suplementação			Dose
	Carbonato de cálcio	Sulfato de cálcio	Nitrato de cálcio	
Antes	21,40 Ab α	24,30 Aa α	19,00 Ab α	20 mL
	36,20 Aa α	30,70 Aa α	29,00 Aa α	40 mL
Depois	15,80 Aa α	17,40 Aa α	14,70 Aa α	20 mL
	14,50 Ba α	12,80 Ba α	17,60 Ba α	40 mL

CV (%) = 46.99

Letras maiúsculas compararam as doses em momentos distintos, as letras minúsculas compararam as doses dentro do mesmo momento enquanto que as letras gregas compararam suplementações.

Em questão ao requisito massa média (tabela 4), analisando momentos distintos, somente a aplicação de nitrato de cálcio a 1% teve um resultado ínfimo quando suplementado antes do choque, as demais foram iguais estatisticamente. Já quando a suplementação é realizada numa dosagem de

40 mL, percebe-se que o nitrato de cálcio é o único suplemento que mantém o mesmo desempenho quando aplicado antes e depois.

Dentro do mesmo momento, a massa média difere apenas antes da indução com a aplicação de sulfato de cálcio, onde sua suplementação a 1% é relativamente maior.

O nitrato de cálcio também foi o único suplemento que teve uma menor massa quando suplementado em uma dose de 20 mL.

Tabela 4: Análise da massa média com relação as variáveis de dose, momento de aplicação e o tipo de suplemento (g).

Momento	Suplementação			Dose
	Carbonato de cálcio	Sulfato de cálcio	Nitrato de cálcio	
Antes	35,10 Aaα	36,04 Aaα	23,17 Baβ	20 mL
	26,32 Baα	24,75 Bbα	29,19 Aaα	40 mL
Depois	36,49 Aaα	38,30 Aaα	40,19 Aaα	20 mL
	43,86 Aaα	38,92 Aaα	34,60 Aaα	40 mL

CV (%) = 29.58

Letras maiúsculas compararam as doses em momentos distintos, as letras minúsculas compararam as doses dentro do mesmo momento enquanto que as letras gregas compararam suplementações.

Foram ao total ao longo desse experimento 46 contaminações de *Trichoderma sp*, ou seja, houve um índice de 38,33% dos blocos contaminados. Sendo que a maior parte dessas surgiram depois da abertura dos sacos. Noa e Ghinda (2022) aponta que grande parte da do surgimento de patógenos competidores se dá no período de inoculação, onde quanto maior o tempo de colonização maiores os riscos de contaminação. Outro ponto a ser levado em conta é que 34 dessas unidades pertencem aos tratamentos com aplicação depois do choque. O surgimento desse agente patogênico é favorecido entre diversos fatores, pela alta umidade disponível no meio, além da disponibilidade de nutrientes (URBEN; 2017). Entre todos os suplementos

aplicados nos diferentes tratamentos, o carbonato de cálcio foi o que apresentou o menor índice de contaminação, com o total de 13 unidades experimentais contabilizadas.

Minerais como magnésio, cálcio, ferro, cobre, manganês, zinco e, frequentemente, molibdênio, são vistos como necessários para o desenvolvimento dos fungos. Há muitas atribuições ao cálcio entre elas, que esse elemento pode apresentar um papel como segundo mensageiro (Royse et al., 2003).

Uma das funções atribuídas ao carbonato de cálcio é a correção de pH do substrato, de acordo com alguns estudos, em determinadas proporções desse elemento, é possível verificar o aumento do número, o rendimento e peso seco dos cogumelos. Já o nitrato de cálcio está ligado com o crescimento do cogumelo. E por fim o sulfato de cálcio acrescenta uma função estruturadora, além de auxiliar também a correção do pH. A adição de doses de gesso entre 0% a 2%, junto com 1% de carbonato de cálcio, contribui na produção de cogumelos maiores, tornando seus benefícios bastante atrativos aos produtores, além disso, o uso destes aditivos, pode ser indicado para obtenção de maior produtividade e número de basidiomas (ZIED, 2021)

Lima et al., 2001, em seu experimento de blocos (2kg) de serragem, verificou uma produtividade média de 13,49%. Onde não foi feita nenhuma suplementação. No trabalho o objetivo foi determinar as taxas de produtividade de blocos de formulação padrão, de 0,8; 1,5; 2 e 2,5 kg, de cultivo axênico de *L. edodes*. Percebe-se que houve uma produtividade inferior quando comparadas aos tratamentos analisados.

De acordo com os estudos realizados por Dzurendova et al. (2021), o cálcio está associado a processos importantes no metabolismo fúngico, como crescimento de hifas, síntese da parede celular, esporulação e tolerância ao estresse. Sendo que sua disponibilidade no substrato é um meio de aperfeiçoamento no processo de fermentação fúngica para potencializar a produção de lipídios ou polifosfatos.

Queiroz et al. (2004), concluíram que para a segunda e terceira frutificações as produtividades médias acumuladas foram baixas, porém, após o quarto fluxo, a produtividade média acumulada aumentou consideravelmente, ocorrendo interação significativa entre as linhas e as taxas de suplementação

mineral. No experimento, no momento da imersão das toras em água foi feita a suplementação de sulfato de amônio em 3 proporções, sendo elas: 0%, 0,05% e 0,5%. Foi observado que a produtividade foi desprezível no primeiro fluxo. Mesmo com uma baixa produtividade no 2º e 3º fluxos, se verifica que a suplementação teve efeitos positivos na produtividade acumulada das linhas Le 95/01 e Le 96/17.

6 CONCLUSÃO

Levando em conta os aspectos da produtividade, os blocos suplementados depois do choque com 40 mL de carbonato de cálcio apresentaram diferença estática. Esse composto químico somente apresenta uma diferença significativa quando comparamos as doses dentro do mesmo momento com relação a produtividade.

Com relação ao número de cogumelos, foi averiguado que o CaCO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ao serem aplicados em dose de 20 mL antes do choque, apresentaram um desempenho inferior em relação a suplementado feita a 2%.

Já com relação a massa média, o resultado mais interessante foi atribuído aos blocos suplementados depois do choque com 40 mL de carbonato de cálcio. Na massa média, foi evidenciado que a suplementação de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ apresentou diferença significativa. O sulfato de cálcio se destacou quando aplicado antes do choque na dose de 20 mL.

REFERÊNCIAS

ABÍLIO, D. P., OLIVEIRA, G. L. P., MARTINS, O. G., MOTTA, S. S., SIQUEIRA, O. A. P. A. & ANDRADE, M. C. N. (2020). Produção de *Lentinula edodes* em toras de híbridos de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla*. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 4(13), 1433-4

ATILA, F. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. *Scientia Horticulturae*. Volume 245. 2019,

CALGAROTO, B. SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE COGUMELOS *Lentinula edodes* (Shiitake). TCC. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ. Paraná. 2019.

CARRASCO, J., ZIED, D.C., PARDO, J.E. PRESTON, G. M. GIMÉNEZ, A. P. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. *AMB Expr* 8, 146 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0678-0>

CHEN, A. W. Cultivation of *Lentinula edodes* on synthetic logs. **Mushroom Growers' Newsletter**, v. 10, n. 4, p. 3-9, 2001.

DZURENOVA, S.; ZIMMERMANN, B.; KOHLER, A.; REITZEL, K.; NIELSEN, U.G.; DUPUY-GALET, B.X.; LEIVERS, S.; HORN, S.J.; SHAPAVAL, V. Calcium Affects Polyphosphate and Lipid Accumulation in Mucoromycota Fungi. *J. Fungi* 2021, 7, 300. <https://doi.org/10.3390/jof7040300>

GAO, S., HUANG, Z., FENG, X. BIAN, Y.; HUANG, W.; LIU, Y. Bioconversão de agrorresíduos de palha de arroz por *Lentinula edodes* e avaliação de compostos gustativos não voláteis em cogumelos. *Sci Rep* 10, 1814 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58778-x>

KAZUKO, E. *The Complete Book of Japanese Cooking*. London, UK: Hermes House, 2006, p. 77.

LIN, FANG-CAN et al. Cultivation of the black oak mushroom *Lentinula edodes* in China. **Cultivation of the black oak mushroom *Lentinula edodes* in China.**, p. 955-958, 2000.

MAGGIO, L. P., DE AVILA HEBERLE, M., KLOTZ, A. L., DE SOUZA FALCÃO, M., DA SILVA, F. A. B., PUTZKE, M. T. L., & PUTZKE, J. Identificação de espécies de cogumelos comestíveis e tóxicas da família Agaricaceae (fungos-Agaricomycetes) encontradas no Brasil. *Brazilian Applied Science Review*, 5(1), 391-416. 2021

MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Tecnologias de Produção de Inoculantes para o Cultivo de Cogumelos Comestíveis. In: 4 International Symposium on Mushrooms in Brazil, 266 Embrapa, 2008, p.42-50.

MOREAUX, K. (2017). Spawn production. *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*, 89-128.

NASCIMENTO, F. G. Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) da cadeia produtiva de Shiitake. 2022. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental) - Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia, Niterói, 2022.

NOA, C.; GHINDA, S. Cultivo de Shiitake *Lentinula edodes* (Berkeley) Pegler. en residuos agroindustriales de arroz del distrito de Kosñipata, provincia de Paucartambo – región Cusco. Tese - Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco Facultad de Ciencias ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA. Peru. 2022

OLIVEIRA, C. C. Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais. 2018. 2 f. Trabalho de conclusão decurso - Universidade federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2018.

PACUMBABA, RP, & PACUMBABA, RO, Jr. (1999). Shiitake Mushroom Growth on the Formulated Culture Media, Production of Spawn, and Basidiocarps in the Laboratory, HortTechnology horttech , 9 (1), 85-90. Recuperado em 29 de abril de 2023, em <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.9.1.85>.

QUEIROZ NEVES, C. F.; GRACIOLLI, L. A. Caracterização da produção em toros do cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler na região oeste do Estado de São Paulo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 487-494, 2008.

PASCHOLATI, S. F.; MARASSATTO, C. M.; STANGARLIN, J. R.; BRAND, S. C. Produção de shiitake em toras de eucalipto. Piracicaba: ESALQ, 2014.

PEREIRA, H. R. .; ALVES, R. N. .; CHAVES, J. da S.; MATOS, S. M. de .; NASCIMENTO, J. P. S. do . .; SOARES, R. B. .; SILVA, L. S. da . Composting of sawdust and fertilization of pumpkin culture in the South of the state of Roraima. Research, Society and Development, [S. l.], v. 9, n. 11, p. e929119510, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i11.9510. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/9510>. Acesso em: 13 jun. 2023.

ROYSE, D. J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, J. E. Influence of precipitated calcium carbonate (CaCO₃) on shiitake (*Lentinula edodes*) yield and mushroom size. **Bioresource technology**, v. 90, n. 2, p. 225-228, 2003.

ROYSE, D. J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications**, p. 5-13, 2017.

SALES-CAMPOS, C.; PESSOA, L. da S.; JESUS, M. A. de; HELM, C. V.; MARTINS, O. G.; ANDRADE, M. C. N. de. Cultivo experimental de Basidiomicetos causadores de podridão branca da região Amazônica em diferentes substratos. Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v. 15, n. 1, 2022.

SHEN, Q. et al. Effects of substrate moisture content, log weight and filter porosity on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. **Bioresource technology**, v. 99, n. 17, p. 8212-8216, 2008.

SOUSA, M. A. De CARVALHO et al. Enzyme activity and biochemical changes during production of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 774-780, 2019.

URBEN, A. F..Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. 3. Ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017.

VANE, C. H.; DRAGE, T. C.; SNAPE, C. E. Biodegradation of oak (*Quercus alba*) wood during growth of the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*): a molecular approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 947-956, 2003.

ZIED, D. C.; et al. Métodos y técnicas para producción de inóculo de hongos comestibles y medicinales. In: Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados 5, 2018, p.128-134.

ZIED, D. C. et al. Selection of strains for shiitake production in axenic substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 10, p. 168, 2016.